

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования



**«Тульский
государственный
университет»
(ТулГУ)**



Проспект Ленина, д. 92, г. Тула, 300012
Тел. (4872) 35-34-44, факс (4872) 35-81-81
e-mail: info@tsu.tula.ru, http://www.tsu.tula.ru

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе,

д.т.н., доц.

Ю.В.Воротилин

Воротилин М.С.

2019 г.



Печать

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет» по диссертационной работе Харьковой Анны Сергеевны на тему: «Микробные амперометрические биосенсоры на основе экзогенных медиаторов электронного транспорта для экологического мониторинга», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Диссертация Харьковой А.С. «Микробные амперометрические биосенсоры на основе экзогенных медиаторов электронного транспорта для экологического мониторинга» выполнена на кафедре «Химия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет».

Харькова Анна Сергеевна, 1991 года рождения, в 2014 году окончила с отличием естественнонаучный факультет ФГБОУ ВПО ТулГУ по специальности 020101 «Химия». С 2014 по 2018 год Харькова А.С. обучалась в очной аспирантуре ФГБОУ ВО ТулГУ.

Научный руководитель:

Кандидат химических наук, доцент кафедры химии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный университет» Арляпов Вячеслав Алексеевич.

Обсуждение диссертации Харьковой А.С. проводилось 26 ноября 2018 года на совместном заседании кафедр химии, биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО ТулГУ (протокол №3).

Выписка из протокола №3 совместного заседания кафедр химии, биотехнологии и биологии ФГБОУ ВО ТулГУ от 26.11.2018.

На заседании присутствовали: к.х.н., доц., директор естественнонаучного института Алферов В.А., д.х.н., доц., зав. кафедрой биотехнологии Понаморева О.Н., д.б.н., доц., зав. кафедрой биологии Волкова Е.М., к.х.н., доц. каф. химии Асулян Л.Д., к.х.н., доц. каф. химии Горячева А.А., к.х.н., доц. каф. химии Арляпов В.А., к.х.н., доц. каф. химии Демкина И.И., к.х.н., доц. каф. биотехнологии Алферов С.В., к.х.н., доц. каф.

химии Морозова Н.А., к.х.н., доц. каф. химии Рогова Т.В., к.б.н., доц. каф. биологии Ягольник Е.А., к.б.н., доц. каф. биотехнологии Акатова Е.В., к.х.н., доц. каф. химии Дмитриева Е.Д., к.х.н., доц. каф. химии Зайцев М.Г., к.б.н., доц. каф. биологии Лагунова Н.Л., к.х.н., доц. каф. химии Кузнецова Т.А., к.х.н., доц. каф. биотехнологии Каманина О.А., асс. каф. химии Осина К.В., асп. каф. биотехнологии Лаврова Д.Г.

Председатель заседания: к.х.н., доц., директор естественнонаучного института Алферов В.А.

Секретарь заседания: к.х.н., доц. Кузнецова Т.А.

Слушали:

Доклад Харьковой А.С. по теме кандидатской диссертации «Микробные амперометрические биосенсоры на основе экзогенных медиаторов электронного транспорта для экологического мониторинга». В своем докладе Харькова А.С. изложила основные результаты проделанной работы, подчеркнула актуальность диссертационного исследования.

В ходе обсуждения были заданы следующие вопросы:

Вопрос д.б.н., доц., зав. кафедрой биологии Волковой Е.М.:

Как проводили пробоподготовку проб парфюмерно-косметической продукции для анализа общей токсичности?

Ответ: Пробоподготовка проводилась в соответствии с нормативными документами: навеску исследуемого образца растворяли в требуемом количестве дистиллированной воды, затем терmostатировали и использовали для анализа.

Вопросы д.х.н., доц., зав. кафедрой биотехнологии Понаморевой О.Н.:

Вопрос 1. Как Вы видите дальнейшее продвижение полученных результатов на практике?

Ответ 1. Разработанные биоэлектрохимические основы формирования рецепторных элементов позволили создать прототип медиаторного биосенсора для определения общей токсичности и индекса БПК₅, была получена универсальная рецепторная система на основе бактерий *Paracoccus yeei*, позволяющая проводить анализ двух показателей качества. В дальнейшем требуется аттестация методики, например, возможно сотрудничество с фирмой ООО «Эконикс-Эксперт». Кроме того, оформляются документы для включения бактерий рода *Paracoccus*, выделенных из активного ила, в открытый фонд ВКМ ИБФМ РАН.

Вопрос 2. В вашем исследовании ферроцен оказался наиболее эффективным, а его производные имеют значительно меньшую эффективность, причем как с электроно-донорными заместителями, так и с акцепторными, почему?

Ответ 2: На скорость электронного обмена в большей степени оказывает не характер заместителя, а характер лимитирующей стадии электронного процесса. Например, Клег в 2013 году показал, если лимитирующей стадией является диффузия медиатора к поверхности электрода, то ввиду близкого размера ферроцина и его производных константы переноса электрона на электрод имеют близкое значение. В представленной работе ферроцен и его производные используются в составе графитовой пасты. С одной стороны, заместители-доноры электронов облегчают окисление

ферроцена, как было показано в работе Фомина, введение двух этильных заместителей в молекулу ферроцена приводило к окислению металлокомплекса молекулярным кислородом в более мягких условиях. Но с другой стороны алкильные заместители увеличивают гидрофобность медиатора, и как было показано в работе другого коллектива, скорость перехода образовавшегося катиона ферроцения из графитовой пасты в раствор снижалась.

Вопрос к.х.н., доц. каф. биотехнологии Алферова С.В.:

Существуют ли другие способы повышения эффективности переноса электронов помимо использования двухмедиаторных систем?

Ответ: Помимо использования двухмедиаторных систем для увеличения эффективности переноса электронов можно использовать вместо целых клеток микроорганизмов их различные фракции. Данный подход позволяет использовать микроорганизмы для селективного анализа, например, для определения лактата используют мембранные фракции дрожжей *Ogataea polymorpha*. Данный подход имеет ограничения при оценке интегральных показателей, а рецепторные элементы обладают более низкой долговременной стабильностью по сравнению с использованием целых клеток микроорганизмов.

Вопросы к.х.н., доц., директора естественнонаучного института Алферова В.А.:

Вопрос 1. Как выбирали микроорганизмы для исследования?

Ответ 1: В случае экспресс-оценки БПК₅ используемые микроорганизмы должны метаболизировать широкий спектр органических соединений. Дрожжи *Ogataea polymorpha* и *Debaryomyces hansenii* являлись перспективным биоматериалом для создания БПК-биосенсоров первого поколения. Бактерии *Gluconobacter oxydans* и *Escherichia coli* метаболизируют спирты и углеводы, на основе данных микроорганизмов разрабатывают медиаторные биосенсоры. Активный ил является инокулятом в стандартном методе анализа, широко используется для создания БПК-анализаторов.

Вопрос 2. Для оценки константы взаимодействия вы использовали дифференциальные уравнения, как выводили?

Ответ 2.: Дифференциальные уравнения не выводили, пользовались опубликованными выводами и приложением Николсона и Шайна для оценки константы взаимодействия медиатора и биоматериала.

Свое мнение о работе высказали:

Выступление д.х.н., доц., зав. кафедрой биотехнологии Понаморевой О.Н.:

Работа является законченной, соответствует специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), выполнена с применением аналитических и биотехнологических методов, научные результаты соответствуют мировому уровню, о чем свидетельствует публикация в высокорейтинговом журнале *Enzyme and Microbial Technology* (импакт-фактор около 3). Практическая значимость полученных результатов подтверждается патентом РФ, одним из авторов которого является Харькова (Зайцева А.С.). Результаты работы апробированы на профильных конференциях. Работа вносит практический вклад в разработку быстрых методов анализа

для оценки индекса БПК₅ и токсичности и может быть рекомендована для защиты по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Выступление к.х.н., доц. каф. биотехнологии Алферова С.В.:

Диссертационная работа Харьковой А.С. является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по созданию микробных биосенсоров, что имеет существенное значение для развития биотехнологии. Считаю, что представленная работа является актуальной, научно обоснованной и законченной. Работа соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук (п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней) и может быть рекомендована для защиты по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Выступление к.х.н., доц., директора естественнонаучного института Алферова В.А.:

Работа является законченной. Подход к формированию рецепторных элементов является новым. Работа расширяет известные ранее подходы, например, основанные на индексе эффективности медиаторов для конкретного микроорганизма, в чем и заключается теоретическая значимость работы. Работа соответствует специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), электрохимия выбрана как инструмент для описания процессов происходящих в биорецепторных системах. Новизна и практическая значимость также относятся к специальности «Биотехнология»: разработаны основы применения микроорганизмов для контроля качества воды и парфюмерно-косметической продукции. Эффективность подхода подтверждена характеристиками биосенсоров: высокая чувствительность и долговременная стабильность. Основные результаты работы отражены в журналах, имеющих именно биотехнологический профиль: «Enzyme and Microbial Technology», «Прикладная биохимия и микробиология».

Диссертационная работа Харьковой Анны Сергеевны является научно-квалификационной работой, соответствует критериям, которой должна отвечать диссертация на соискание ученой степени кандидата наук и может быть рекомендована для защиты по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Заключение

На основании доклада и выступлений было сделано следующее заключение совместного заседания кафедры химии, биологии и биотехнологии ТулГУ по диссертационной работе Харьковой Анны Сергеевны «Микробные амперометрические биосенсоры на основе экзогенных медиаторов электронного транспорта для экологического мониторинга»:

1. Диссертационная работа Харьковой А.С. является завершенным научно-квалификационным исследованием. Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в получении результатов исследований, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по выполненной работе.

2. Представленный список опубликованных работ, выводы и результаты работы свидетельствуют о достаточном кругозоре автора и о хорошей научно-технической подготовке.

3. Язык и стиль диссертации соответствует нормам и требованиям, предъявляемым к работам, направляемым в печать. Материал диссертации изложен логично, аргументировано, технически грамотно, достоверность полученных соискателем результатов сомнений не вызывает. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

4. По объему, актуальности, научной новизне, целостности, законченности, практической значимости и публикациям диссертация Харьковой А.С. полностью соответствует требованиям, установленным п. 9 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 24.09.2018) "О порядке присуждения ученых степеней".

Актуальность работы

Последнее десятилетие отмечено интенсивным использованием микроорганизмов для количественного определения показателей качества воды (индекса биохимического потребления кислорода, индекса токсичности). В основе функционирования большинства биоанализаторов лежат ферментативные реакции микроорганизмов с анализируемыми компонентами. Одновременно происходит потребление кислорода клетками, что фиксируется физико-химическими преобразователями (амперометрический или оптический кислородный датчик). Скорость потребления кислорода микроорганизмами является аналитическим сигналом для определения концентрации анализа по методу градуировочного графика. Необходимо учитывать, что концентрация растворенного кислорода в кювете зависит от поступления кислорода из атмосферы, автопотребления кислорода кислородным датчиком (расход кислорода на электрохимическое восстановление в единицу времени) и поглощение кислорода компонентами датчика (например, поступление кислорода в рабочий электролит кислородного электрода) учет данных процессов позволяет снизить погрешность измерения потребления кислорода живыми системами. Главным недостатком биосенсоров, основанных на фиксации потребления кислорода биокатализатором, является невозможность использования данных анализаторов в анаэробных условиях, например, для автоматического контроля качества анаэробной очистки по индексу биохимического потребления кислорода.

Альтернативой могут стать медиаторные биосенсоры. В устройствах данного типа в систему «аналит-микроорганизм» вводится специальное соединение – медиатор электронного транспорта, обладающий окислительно-восстановительными свойствами и способный восстанавливаться под действием микроорганизмов. Количество восстановленного клетками медиатора пропорционально метаболической активности биоматериала, что можно зафиксировать с помощью физико-химических преобразователей, например, если к электрохимической ячейке приложить внешний потенциал, равный окислительно-восстановительному потенциальну используемого медиатора, то в результате последовательных окислительно-восстановительных реакций в системе возникает ток, изменение которого пропорционально концентрации определяемого вещества или смеси.

Таким образом, формирование аналитического сигнала носит комплексный характер и основано на биохимических и электрохимических процессах, происходящих в системе «аналит-микроорганизм-медиатор-электрод». На сегодняшний день формирование систем «микроорганизм-медиатор-электрод» носит или эмпирический характер, или основано на моделировании функционирования медиаторных биосенсоров в рамках двухсубстратной ферментативной реакции и определении «индекса эффективности», что позволяет количественно сравнить эффективность медиаторов электронного транспорта. Однако, рассматривая систему «электрод – медиатор – микроорганизмы» в целом, не углубляясь в происходящие процессы, выявить причину низких характеристик биосенсора становится труднорешаемой задачей. Более универсальным подходом создания медиаторных биосенсоров может стать учет количественных характеристик процессов, происходящих в данной системе, что позволяет выбрать более эффективный медиатор для используемого микроорганизма или выявить причину низких характеристик биосенсора и пути ее устранения.

Научная новизна

Впервые на основе констант взаимодействия микроорганизмов с медиатором и констант гетерогенного переноса электронов на угольно-пастовый электрод выявлены наиболее эффективные медиаторы для бактерий *Paracoccus yeei* ВКМ В-3302 и дрожжей *Debaryomyces hansenii* ВКМ Y-2482. Эффективность выбранных медиаторов подтверждена характеристиками биосенсоров.

Впервые на основе полученных констант взаимодействия дрожжей *D. hansenii* с медиаторами электронного транспорта, гетерогенных констант переноса электронов на электрод, а также констант скорости взаимодействия ферроцена и медиаторов феназинового ряда предложен подход к формированию двухмедиаторных систем, позволяющий увеличить эффективность переноса электронного транспорта, что положительно влияет на характеристики биосенсора.

Впервые показано, что бактерии активного ила *Paracoccus yeei* способны к окислению широкого спектра органических веществ и чувствительны к основным модельным токсикантам, что позволяет использовать данные микроорганизмы при создании универсальных биорецепторных систем для определения биохимического потребления кислорода и индекса токсичности.

Теоретическая и практическая значимость работы

Используемый подход выбора медиатора по константам скорости взаимодействия с биоматериалом и электродом является универсальным и может использоваться при разработке биосенсоров для мониторинга других показателей.

Разработанные электрохимические системы могут использоваться в дальнейшем для создания прототипа медиаторного биосенсора для определения токсичности и индекса БПК, чувствительность которого не будет уступать известным аналогам. Работа вносит практический вклад в разработку микробных биосенсоров и позволяет в перспективе производить недорогие и эффективные экспресс-анализаторы качества воды.

В полученном в результате работы патенте на полезную модель № 164144 «Устройство для экспресс-мониторинга индекса биохимического потребления кислорода»

от 21.10.2015 (бюллетень № 23) отражено повышение технических характеристик за счет использования двухмедиаторных систем.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Личный вклад автора состоял в непосредственной постановке задач исследования, в планировании и получении основных экспериментальных результатов направленных на разработку биосенсоров для экологического мониторинга. Лично автором были выполнены исследования кинетики переноса электронов на каждой отдельной стадии медиаторного биоэлектрокатализа в системе «микроорганизм – медиатор – угольно-пастовый электрод», анализ и систематизация полученных результатов. Харькова А.С. участвовала в проведении совместных экспериментов, в частности, в исследовании по идентификации выделенных микроорганизмов. Полученные, проанализированные и систематизированные результаты позволили автору совместно с научным руководителем сформировать биоэлектрохимические основы формирования рецепторных элементов лабораторных моделей БПК-биосенсора и биосенсора для определения индекса токсичности.

Степень достоверности результатов

Достоверность полученных результатов подтверждена современными методами исследования, многократным воспроизведением результатов опытов и корректной статистической обработкой полученных зависимостей. В работе использовано современное оборудование и современные методы исследования – амперометрия, циклическая вольтамперометрия, спектрофотометрия, ИК-спектроскопия и сканирующая электронная микроскопия. Объем использованных Харьковой А.С. методов исследований позволил получить достаточную и достоверную информацию. Научные положения, выводы полностью обоснованы, достоверны, вытекают из полученных результатов и получили признание в научной литературе и на различных конференциях.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите

Работа соответствует паспорту специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) на соискание ученой степени кандидата химических наук, а именно пункту 7: «Разработка новых технологических процессов на основе микробиологического синтеза, биотрансформации, биокатализа, иммуносорбции, биодеструкции, биоокисления и создание систем биокомпостирования различных отходов, очистки техногенных отходов (сточных вод, газовых выбросов и др.), создание замкнутых технологических схем микробиологического производства, последние с учетом вопросов по охране окружающей среды» и пункту 8: «Разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепараторов».

Соответствие диссертации требованиям, установленным по п.14. Положение о присуждении ученых степеней ВАК. Диссертационная работа и автореферат Харьковой А.С. прошли проверку на наличие неправомерных заимствований в системе

«Антиплагиат». В результате выявлено, что диссертация содержит 96 % оригинального текста, автореферат – 96 % оригинального текста.

Апробация работы

Работа была отмечена *II премией и медалью VIII Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития»* (Москва, 2015), золотой медалью выставки 20-го Международного салона изобретений и инновационных технологий «Архимед» (Москва, 2017); *дипломом победителя Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология»* (Тула, 2014). Основные положения диссертационной работы представлялись на IX и XI Международных конгрессах «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2017-2019 гг.); I Международном форуме молодых ученых «наука будущего – наука молодых» (Севастополь, 2015 (*работа отмечена дипломом финалиста*)); Международной научно-технической конференции «Системы контроля окружающей среды» (Севастополь, 2016 г.); Всероссийских конференциях с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология» (Тула, 2013-2018), 22-ой Международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушкино, 2018).

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

Работы, опубликованные в изданиях, индексируемых в Web of Science

1. Zaitseva A.S. (Харькова А.С.), Arlyapov V.A., Yudina N.Yu., Alferov S.V., Reshetilov A.N. Use of one- and two-mediator systems for developing a BOD biosensor based on the yeast *Debaryomyces hansenii* // Enzyme and Microbial Technology. - 2017. - V. 98. - P. 43-51.

2. Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Арляпов В.А., Юдина Н.Ю., Носова Н.М., Алферов В.А., Решетилов А.Н. Медиаторный БПК-биосенсор на основе ферроцена и дрожжевых клеток *Debaryomyces hansenii* // Прикладная биохимия и микробиология. - 2017. - Т. 53, № 3. - С. 381–387.

3. Харькова А.С., Арляпов В.А., Туровская А.Д., Автух А.Н., Стародумова И.П., Решетилов А.Н. Медиаторный БПК-биосенсор на основе клеток микроорганизмов, выделенных из активного ила // Прикладная биохимия и микробиология. - 2019. -Т. 55, №2. - С. 199-209.

Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК

1. Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Арляпов В.А., Решетилов А.Н. Медиаторный биосенсор на основе микроорганизмов активного ила для экспресс-определения низких значений БПК₅ // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2017. - Т. 13, № 1. - С. 50-57.

2. Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Косарева К.И., Алферов В.А., Арляпов В.А. БПК-биосенсор на основе дрожжей *Debaryomyces hansenii* и бимедиаторной системы ферроцен-метиленовый синий // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. Тула: Изд-во ТулГУ. -2015.- Вып. 3. - С. 249–259.

3. Юдина Н.Ю., Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Козлова Т.А., Арляпов В.А. БПК-биосенсор на основе дрожжей *Debaryomyces hansenii* и медиатора нейтральный красный //

Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. - 2013.- Вып. 2, Ч.1.- С. 289–297.

4. Юдина Н.Ю., Арляпов В.А., **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**, Решетилов А.Н. Влияние времени культивирования, состава исследуемых проб и условий анализа на окислительную активность дрожжей *Debaryomyces hansenii* // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. Вып. 3. Тула: Изд-во ТулГУ.- 2012. - С. 186-197.

Патенты

1. Устройство для экспресс-мониторинга индекса биохимического потребления кислорода: пат. ПМ № 164144 Рос. Федерация: МПК C12M 1/34, C12M 1/40, C12Q 1/02 / **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**, Юдина Н.Ю., Арляпов В.А., Понаморева О.Н., Алферов В.А. ; заявитель Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Тульский государственный университет» (ТулГУ) - № 2015145398/10; заявл. 21.10.2015; опубл. 20.08.2016, бюл. № 23, патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "Эконикс-Эксперт" – лицензионный договор РД0241891 19.01.2018; опубл. 19.01.2018, бюл. № 2.

Статьи в прочих научных журналах, тезисы докладов

1. **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**, Алферов В.А. Биоэлектрокатализ в системах «субстрат-клетки-медиатор-электрод» как основа медиаторных биосенсоров и биотопливных элементов // Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 20-22 февраля 2017 г., в 2-х томах. Том 2. М.: ООО “РЭД ГРУПП”, 2017.- С.445-448.

2. **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**. Медиаторный БПК-биосенсор для экспресс-анализа индекса биохимического потребления кислорода // Материалы I Молодежной научно-практической конференции с международным участием «Естественнонаучные, инженерные и экономические исследования в технике, промышленности, медицине и сельском хозяйстве». – Белгород: Изд-во НИУ БелГУ, 2017.- С. 507- 510.

3. **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**, Белова Ю.В., Арляпов В.А., Алферов В.А., Решетилов А.Н. Использование одностенных нанотрубок для создания БПК-анализаторов. Успехи синтеза и комплексообразования // Тезисы докладов I Всероссийской молодежной школы-конференции. Москва, РУДН, 25-28 апреля 2016 г. – Москва: РУДН, 2016. – 341 с. ил.- С. 249.

4. **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)**, Арляпов В.А., Алферов В.А. БПК-биосенсор на основе активного ила и медиатора феррицианида калия // Международный научный форум «Наука будущего - наука молодых». Сборник тезисов. Севастополь, 29 сентября - 2 октября 2015 г.- С. 40-41.

5. **Зайцева А.С. (Харькова А.С.)** Экспресс-анализатор индекса биохимического потребления кислорода // Тезисы Международной научно-технической конференции «Системы контроля окружающей среды – 2016». Севастополь, 24 – 27 октября 2016 г. – Севастополь: ИПТС, 2016.- С. 37.

6. Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Казакова С.С., Туровская А.Д. Определение констант скорости взаимодействия клеток *D. hansenii* с медиаторами электронного транспорта при окислении глюкозы // Всероссийская конференция с элементами научной школы молодежи «Экотоксикология - 2016»: материалы конференции. Тула: Изд-во ТулГУ, 2016.- С. 90-92.

7. Зайцева А.С. (Харькова А.С.), Алексеева А.О., Арляпов В.А. Разработка макета БПК-биосенсора на основе дрожжей *Debaryomyces hansenii* и медиаторов ферроцен – метиленовый синий // Материалы VIII Московского Международного Конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 17-20 марта 2015 г. В 2-х частях. Часть II. М.: ЗАО «Экспо-биохим- технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2015.- С. 382-383.

Диссертация «Микробные амперометрические биосенсоры на основе экзогенных медиаторов электронного транспорта для экологического мониторинга» Харьковой Анны Сергеевны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Заключение принято на совместном заседании кафедр химии, биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО ТулГУ от 26.11.2018

На заседании присутствовало 19 чел. Результаты голосования «за» - 19 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 3 от 26 ноября 2018 г.

Директор ЕИ

к.х.н., доц. В.А. Алферов

Зав. кафедрой биотехнологии

д.х.н., доц. О.Н. Понаморева

Зав. кафедрой биологии

д.б.н., доц. Е.М. Волкова

Секретарь

к.х.н., доц. Т.А. Кузнецова